Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg
Professor Dr. Mueller

Fehl- und irrtümliche Reaktionen bei der Uhlenhuthschen Präcipitinprobe.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der Badischen Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

vorgelegt von

Hermann Dehoust

aus Mannheim

1941

Buchdruckerei Richard Mayr, Würzburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg.

Dekan: Professor Dr. Rodenwaldt

Referent: Professor Dr. Mueller

Meinen lieben Eltern!

Die biochemische Eiweißreaktion, Präcipitinreaktion, die durch Uhlenhuth und Wassermann-Schütze in die forensische Praxis eingeführt wurde, gründet sich auf die Erzeugung spezifischer Antikörper, der Präcipitine. Der entstehende Niederschlag, Präcipitat, bildet sich durch das Zusammenwirken zweier Substanzen, des im Antiserum des Tieres A enthaltenen Präcipitins und des in der homologen Eiweißlösung der Tierart B enthaltenen Präcipitinogens. Wie der Name schon besagt, ist die Präcipitinreaktion eine Eiweißreaktion, also keine spezifische Blutreaktion. Die chemische Natur dieser Substanzen ist bis jetzt noch nicht geklärt. Leers nimmt an, daß sie mit den Eiweißkörpern der Eiweißlösung eng verbunden sind. Ob diese Substanzen aber selbst Eiweißkörper sind, ist ungewiß. Da eine chemische Isolierung dieser Stoffe noch nicht gelungen ist, weiß man nicht, ob es sich um einheitliche Körper handelt.

Die Leistungsfähigkeit der Uhlenhuthschen Präcipitinprobe gilt in der forensischen Praxis als so zuverlässig, daß man von ihrem Ausfall Leben und Tod eines Menschen abhängig machen kann. Daher ist von großer Wichtigkeit, daß man alle Einflüsse, die das Auftreten von Fehlreaktionen und irrtümlichen Reaktionen verursachen, genau kennt. Alle bisher im Schrifttum erwähnten schädigenden Einflüsse chemischer Natur lassen sich in fünf ursächliche Momente zerlegen:

1. Chemischer Einfluß durch die Blutunterlage.
2. Bewußter und unbewußter Versuch des Laien, das Blut durch chemische Mittel zu entfernen.
3. Schädigender Einfluß des Blutauflösungsmittels.
4. Chemische Vorproben zum Nachweis von Blut.
5. Fixierungsmittel.

Uhlenhuth und Pfeiffer machen uns darauf aufmerksam, daß chemische Einflüsse der Blutunterlage sowie der Umgebung des Blutes den biologischen Blutnachweis stören können. Das Blut kann sich in der Praxis unter den verschiedensten Verhältnissen an allen möglichen Gegenständen vorfinden. Uhlenhuth und Pfeiffer prüften daher Extrakte der Blutunterlage, die bestimmt blutfrei sind,

um sicher zu gehen, daß die so gewonnenen Auszüge nicht mit den Eiweißlösungen Fällungen oder Trübungen geben, die nicht auf eine Präcipitinreaktion zurückgeführt werden dürfen. Uhlenhuth berichtet selbst von einer Reihe von Untersuchungen der verschiedensten Extrakte, die als Blutunterlage in Frage kommen können, um etwaige Fehlreaktionen festzustellen. Er erhielt bei angetrockneten Blutflecken auf Holz, Eisen, Papier, Steinen, Kohle, Kork, Band, Gummi, Linoleum, Leinwand, Shirting, Gartenerde, rostigen Messern, Streichhölzern, Baumästen, Glas, Silber- und Kupfermünzen spezifische Reaktionen. Die Präcipitinprobe erfährt durch diese Unterlagen keine Störung. Uhlenhuth fand aber, daß Extrakte einer Weidenrinde und Lederextrakte bei Zusatz von Antiserum und auch normalem Serum einen Niederschlag geben. Als Ursache für diese Fehlreaktionen gibt er den Gehalt dieser Extrakte an Gerbsäure an. Er weist also darauf hin, daß stark saure Lösungen die Präcipitinprobe stören, da sie auf das Serumeiweiß koagulierend wirken. Die durch Koagulation hervorgerufenen Trübungen sind einer spezifischen Reaktion ähnlich. Meistens konnte Uhlenhuth durch Neutralisierung der Extraktflüssigkeit diesen störenden Einfluß beseitigen. Bei Extrakten von blutbeflecktem, dickem Leder erhielt er nach der Neutralisierung keine spezifische Reaktion mehr. Er nimmt an, daß durch die Art der Präparation dieses Leders die Vernichtung der präcipitablen Substanz des Blutes zustande kommen kann. Auch Kalk und Eisenrost bezeichnet Uhlenhuth als störende Unterlagen. Die Befunde seiner Untersuchungen beweisen, daß manches Material, das als Blutunterlage in Frage kommen kann, Säuren und Basen enthält, die die Ausführung der Präcipitinreaktion stören und zu Täuschung Veranlassung geben können.

Uhlenhuth hat zusammen mit Beumer auch fast alle vorgeschlagenen Lösungsmittel einer sorgfältigen Prüfung unterzogen. Da ihre Untersuchungstabelle am besten Aufschluß über die Ergebnisse gibt, werde ich sie hier wiedergeben.

Untersuchungstabelle von Uhlenhuth und Beumer.*)

3 Tropfen Rinderantiserum werden getropft in 3 ccm Rinderblutlösung, hergestellt mit:

Leitungswasser	sehr starke Trübung
physiol. Kochsalzlösung	starke Trübung
$^1/_{10}$ physiol. Kochsalzlösung	starke Trübung
destilliertes Wasser	starke Trübung
0,1%ige Sodalösung	sehr leichte Trübung
2,0%iges Natriumbicarbonat	sehr leichte Trübung
2,0%ige Boraxlösung	sehr leichte Trübung
1,0%ige Boraxlösung	kaum sichtbare Trübung
Cyankaliumlösung	klar
0,1%iges Natriumbicarbonat	starke Trübung

Bei Soda- und Boraxlösung tritt wohl die biologische Reaktion ein, doch ist sie bezüglich der Intensität des Auftretens wesentlich beeinträchtigt. Nach dieser Tabelle wären alle Flüssigkeiten als Lösungsmittel gut zu heißen, die eine starke Trübung als spezifische Reaktion zulassen. Doch in einer anderen Tabelle von Uhlenhuth und Beumer*) zeigt sich, daß Leitungswasser, $^1/_{10}$ physiol. NaCl und destilliertes Wasser mit 3 Tropfen Rinderantiserum schon eine leichte Trübung geben, während die physiologische Kochsalzlösung klar bleibt. Als Lösungsmittel des Blutfleckens verwendet man daher die physiologische Kochsalzlösung (0,85% NaCl).

Die störende Beeinflussung der Präcipitinreaktion durch chemische Vorproben zum Blutnachweis beweisen uns die Arbeiten von Walcher. Er stellte fest, daß Blutbestandteile, die mit essigsaurer Benzidinlösung oder mit Wasserstoffsuperoxyd in Berührung kamen, für die biologische Eiweißdifferenzierung geschädigt sind.

Graham-Smith und Nuttal haben bei Untersuchungen starker Antiseptica wie Formalin, Lysol, Lysoform, Kupfersulfat, Eisensulfat und Silbernitrat festgestellt, daß dieselben die reaktionsfähigen Eiweißstoffe schädigen, während flüchtige Antiseptica wie Benzol, Äther, Chloroform u. a. die Reaktion nicht beeinträchtigten.

Das vorliegende Schrifttum weist insofern Lücken auf, als die Ab-

*) Tabellen aus Uhlenhuth und Weidanz: Praktische Anleitung z. Ausf. d. b. Eiweißdifferenzierungsverfahrens.

hängigkeit der Entstehungsmöglichkeit einer Fehlreaktion von dem Konzentrationsgrad der Extraktflüssigkeit nicht klar ersichtlich ist. Deshalb mache ich folgende Untersuchungen:

1. Einige Tropfen Menschenblut werden auf eine geringe Menge Kalkmehl gespritzt, das auf einer Glasplatte ausgebreitet ist. (Kalkmehl wird vom Landwirt im Spätjahr als Düngemittel in Feld und Garten verwendet. Es ist daraus ersichtlich, daß Kalk als Blutunterlage in der forensischen Praxis gegeben sein kann.) Nach 4 Tagen löste ich dieses blutbespritzte Kalkmehl in physiologischer Kochsalzlösung auf. 24 Stunden darauf zentrifugierte und filtrierte ich diese Extraktflüssigkeit, um sie zu klären. Die Reaktion, mit Lakmus geprüft, ist alkalisch. Obwohl ich nicht neutralisiert habe, erhielt ich beim Anstellen der Präcipitinprobe eine spezifische Reaktion, die im Auftreten keinen merklichen Unterschied gegenüber anderen untersuchten neutralen Blutlösungen zeigte.

2. In einen mit Zigarettenasche gefüllten Aschenbecher tropfte ich etwas Menschenblut. Nach vier Tagen extrahierte ich eine kleine Menge dieser blutbespritzten Asche mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Extraktflüssigkeit reagierte alkalisch. Wie aus der unten stehenden Tabelle ersichtlich ist, hat diese Zigarettenasche als Blutunterlage keinen störenden Einfluß auf den biologischen Blutnachweis.

3. In ein Stückchen Leinwand lasse ich schwach alkalisch reagierende Seifenlösung eintrocknen. Einen auf dieses Stoffstückchen gebrachten Menschenblutstropfen ließ ich ebenfalls eintrocknen. Kleinste zerstückelte Teilchen dieser Leinwand extrahierte ich mit physiologischer Kochsalzlösung. Nach 24stündiger Extraktionsdauer stellte ich die Präcipitinreaktion an. Der positive Ausfall der Präcipitinprobe folgert, daß auch schwach alkalisch reagierende Seifenlösung die biochemische Eiweißreaktion nicht beeinflussen.

Bei den in der Praxis vorgeschriebenen Verdünnungen, in denen Blutextrakte untersucht werden, sind die alkalischen und sauren Reaktionen so schwach, daß sie nicht störend wirken.

Untersuchungstabelle 1.

Extrakt aus	Präcipitinprobe angestellt mit											
	Anti-menschenserum			Anti-rinderserum			Anti-schweineserum			Anti-kaninchenserum		
	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.
Kalk 4 Tage vorher mit Menschenblut bespritzt	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Zigarettenasche 4 Tage vorher mit Menschenblut bespritzt	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Seifenlösung mit Menschenblut-tropfen	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Präcipitinprobe mit stark verdünnten alkalischen Extrakten.

Um eine Vorstellung zu bekommen, welche Konzentrationen von Säuren und Alkalien Fehlreaktionen verursachen können, untersuchte ich daraufhin Essigsäure und Natronlauge. Konzentrierte Essigsäure (Acidum aceticum) verdünnte ich mit destilliertem Wasser und beobachtete die verschiedensten Verdünnungsgrade bei Zusatz von hochspezifischem Menschenantiserum im gequetschten Röhrchen. Dabei mußte ich allerdings berücksichtigen, daß destilliertes Wasser, wie U h l e n h u t h schon festgestellt hat, eine schwache Trübung beim Zusatz von Antiserum gibt. Wie aus der Versuchsreihe ersichtlich ist, wirkt eine Verdünnung von 1 : 1000 nicht mehr störend auf die Präcipitinreaktion.

Untersuchungstabelle 2.

Konzentration der Essigsäure	Im gequetschten Röhrchen
	Hinzufügung von 3 Tropfen Menschenantiserum
0,1	sofortige starke Ringbildung
0,01	starke Ringbildung
0,001	sehr schwacher Trübungsring

Präcipitinprobe mit verschiedenen Konzentrationen der Essigsäure

Da Alkalien die präcipitable Substanz vernichten, untersuchte ich Natronlauge, indem ich Menschenblutlösungen durch Natronlaugeverdünnungen alkalisierte und dann die Präcipitinprobe anstellte. Das Ergebnis zeigt auch hier, daß der Verdünnungsgrad von 1 : 1000 einer konzentrierten Natronlauge (Natriumhydroxyd) eine normale spezifische Reaktion zuläßt.

Untersuchungstabelle 3.

0,2 ccm u. 0,2 ccm		Im gequetschten Röhrchen
Konzentration der Natronlauge	Menschenblut in Verdünnung	Hinzufügung von 3 Tropfen Menschenantiserum
1	1 : 500	nach 3 Minuten schwache Trübung
1	1 : 5000	keine Ringbildung
0,1	1 : 500	schwache Ringbildung
0,1	1 : 5000	keine Trübung
0,01	1 : 500	Ringbildung
0,01	1 : 5000	sehr schwache Trübung
0,001	1 : 500	normale Präcipitatmenge
0,001	1 : 5000	normale Ringbildung

Anstellung der Präcipitinprobe mit Menschenblutlösung, die durch verschieden konzentrierte Natronlauge alkalisiert wurde.

So ist zusammenfassend zu sagen, daß nur stark saure und stark alkalische Reaktionen die Uhlenhuthsche Präcipitinprobe stören. Bei starker Verdünnung des Extraktes sind die darin enthaltenen Säuren und Alkalien so schwach, daß sie die spezifische Reaktion nicht beeinträchtigen können. Diese Verdünnungen kann man bekanntlich ohne weiteres vornehmen, da das Blut in Verdünnung bis 1 : 10000 mit hochspezifischem Antiserum nachzuweisen ist. Während bei den irrtümlichen Reaktionen, wie ich im weiteren Verlauf meiner Arbeit zu zeigen vermag, typische Unterscheidungsmerkmale gegenüber der spezifischen Präcipitinreaktion zu finden sind, treten bei starken Säuregraden die für die spezifische Reaktion als typisch geltenden ringförmigen Trübungen auf.

Da das Formalin seit langem zur Fixierung von Organen in ausgiebigem Maße benutzt wird, habe ich mich selbst von der schädigen-

den Wirkung auf den biologischen Blutnachweis überzeugt. Ich untersuchte Formalin in 5%iger Verdünnung, wobei sich die Prozentzahl auf den Gehalt an Formaldehyd bezieht, wie es im allgemeinen verwendet wird.

Für meine Untersuchung legte ich ein Stückchen eines Menschenmuskels mit einem Blutkoagulum 24 Stunden in Formalin. Nach 24-stündiger Extrahierung in physiologischer Kochsalzlösung stellte ich die Präcipitinreaktion an, wobei ich wie bei allen übrigen Versuchen hochspezifisches Antiserum benutzte. Eine Trübung war während meiner halbstündigen Beobachtung nicht festzustellen. Die Präcipitinreaktion verlief auch negativ, als ich das Präparat nur eine Stunde in Formalin fixiert hatte. Es kam wohl zu einer ganz schwachen Trübung, die aber nicht als spezifisch positive Reaktion gewertet werden kann.

Auf eine weitere Entstehungsart von Fehlreaktionen macht uns zum ersten Male H e i n d l aufmerksam. Er berichtet von einer Irrtumsmöglichkeit der Präcipitinprobe, indem er folgenden Fall mitteilt: „Wie wir einer Mitteilung des chemischen Staatslaboratoriums in Lagos entnehmen, sollte dort kürzlich gelegentlich eines Mordfalles mit Hilfe der Präcipitinprobe untersucht werden, ob verdächtige Flecken auf einem Gummi-Regenmantel von Menschenblut herrührten. Die Untersuchung ergab ein positives Resultat. Später stellte sich aber heraus, daß die Flecken unmöglich von Menschenblut herrühren konnten. Als man nunmehr einige beliebige andere Stellen des Mantels, die keinerlei Befleckung zeigten, ebenfalls nach der Uhlenhuthschen Methode untersuchte, erzielte man das gleiche positive Ergebnis. Auch Versuche mit anderen stark gummierten Regenmänteln lieferten stets positive Reaktionen. Es ließ sich keine Methode finden, von dem imprägnierten Mantelstoff das Blut zu trennen, ohne daß das Imprägnierungsmittel mit in Lösung ging und die Fehlreaktion veranlaßte."

F r i t z hat als erster die Nachprüfung dieses mitgeteilten Ergebnisses gemacht. Er fand, daß reiner Gummi und Gummilösung keine Fehlreaktion zeigen, während imprägnierte Gummimäntel mit verschiedenen präcipitierenden und auch menschlichen Seren eine Fällung geben.

Die Mitteilung von Heindl war auch für mich der Anlaß zur Nachprüfung. Ich habe Extrakte von imprägnierten Gummimänteln aller Ausführungen, die nicht mit Blut in Berührung gekommen sein konnten, hergestellt. Zur Auslaugung kleinster zerstückelter Mantelteilchen nahm ich physiologische Kochsalzlösung. Die Extrakte untersuchte ich nach 24, 48 und 72 Stunden auf eine etwaige irrtümliche Präcipitinprobe mit tierischen und menschlichen Antiseren mittels der Uhlenhuthsche Präcipitinprobe im gequetschten Röhrchen, in der Hauserschen Kapillare und mit dem Mikroskop auf dem Objektträger im Dunkelfeld. Die Extrakte habe ich zur Klärung zentrifugiert. Die Eigenschaften der Antiseren, nämlich klar, steril, nicht opaleszierend, hochwertig, hochwirksam und artspezifisch, waren Vorbedingung meiner Untersuchungen. Ich fand dabei nach der unten beschriebenen Ausführung der Versuche folgendes Ergebnis:

Untersuchungstabelle 4.

Extrakt aus	Präcipitinprobe angestellt mit											
	Anti-menschenserum			Anti-schweineserum			Anti-rinderserum			Menschen-normalserum		
	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.	n. 24 Std.	n. 48 Std.	n. 72 Std.
Gummi-Regenmantel schwach imprägniert	—	—	—	—	—	—	—	—	-	—	—	—
Kleppermantel stark imprägniert	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gummi-Regenmantel schw. imprägn. mit eingetrocknetem Menschenblut	+	+	+	—	—	—	—	—		—	—	—
Kleppermantel stark imprägn. mit eingetrocknetem Menschenblut	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Präcipitinprobe mit Extrakten aus schwach u. stark imprägnierten Gummimänteln.

Bei der weiteren Untersuchung von Stoffen, die in der Praxis als Blutunterlage in Frage kommen können, fand ich bei den Extrakten

aus Fahrradmänteln, Autoreifen und Buna die typischen Trübungen für irrtümliche Reaktionen.

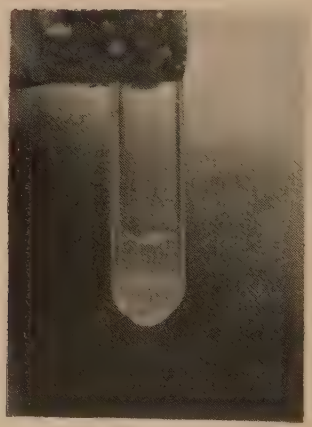
Untersuchungstabelle 5.

Extrakt aus	Präcipitinprobe angestellt mit den Antiseren von Mensch, Rind, Schwein, Kaninchen u. Normalserum		
	24 Stdn. extrahiert	48 Stdn. extrahiert	72 Stdn. extrahiert
Fahrradschlauch	—	—	—
Fahrradmantel	sofortige Trübung	Trübung	Trübung
Radiergummi	—	—	—
Leukoplast	—	—	—
Autoreif	—	Trübung	Trübung
Buna	—	schwache Trübung	Trübung
Bodenwachs	—	—	—
Schuhwichse	—	—	—
Stearinkerze	—	—	—
Lackfarbe	—	—	—

Präcipitinprobe mit Extrakten aus verschiedenen Stoffen

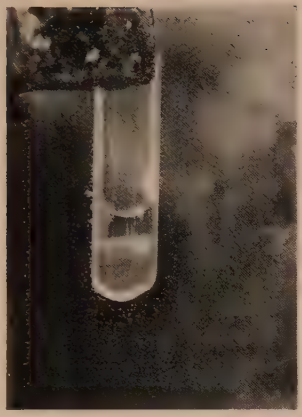
Die Untersuchung der Präcipitinprobe im gequetschten Röhrchen scheint mir die einfachste Methode. Die Original-Uhlenhuthsche Methode unterscheidet sich von dieser lediglich im Kaliber und dem Querschnitt der benutzten Reagenzgläschen. Uhlenhuth verwendet runde Röhrchen von 10 cm Länge und 0,9 cm Durchmesser. Die erstmals nach Angaben von Richters (nach Walcher zitiert) hergestellten gequetschten, flachen Röhrchen werden zur Ersparnis im Materialverbrauch auch bei meinen Versuchen verwendet. Bei diesen Röhrchen werden im Gegensatz zu den runden Gläschen die störenden Lichtreflexe bei der Beobachtung fast ganz vermieden, da die Röhrchen im mittleren Teil ihres Querschnittes beinahe planparallele Längswände besitzen. Sie bestehen aus dünnem Glas von 6 cm Länge und einer Lichtung von 0,3 : 0,9 cm, die im Querschnitt eine flache Ellipse darstellt. Mittels einer Kapillarpipette wird die Blutlösung oder Extraktflüssigkeit 10—20 mm hoch in das Röhrchen eingefüllt. Unter Schräghalten des Röhrchens füge ich mit einer anderen sterilen Kapillare 2 Tropfen des Antiserums hinzu, welches an der Wand herabgleitet. Das spezifisch schwerere Antiserum setzt sich nach langsamem Aufrichten des Gläschens auf den Grund desselben.

Bei einer spezifischen Präcipitinreaktion zeigt sich nach wenigen Augenblicken eine scheibenförmige Trübung zwischen Extrakt und Antiserum. Im Gegensatz zu dieser ringförmigen Trübung entstehen bei den Extrakten, die bei meinen Versuchen als irrtümliche Reaktionen bezeichnet werden, sofortige trübende Wölkchen, wenn sich die beiden Flüssigkeiten berühren. Besonders typisch ist eine starke Trübung an der noch extraktfeuchten Röhrchenwand. Eine scheibenförmige Trübung, wie sie für eine spezifische Reaktion typisch ist, habe ich nicht beobachtet. Bei längerer Extraktionsdauer, also nach 48 und 72 Stunden, sah ich einige Male eine Wolkenbildung an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten, die der scheibenförmigen Trübung ähnelt. Diese Wolkenschicht ist aber nach der Extraktflüssigkeit hin viel mehr aufgelockert. Ferner fehlte nie die wolkige Trübung an der Röhrchenwand. Durch photographische Aufnahmen konnte ich den Unterschied zwischen einer spezifischen Reaktion von einer irrtümlichen Reaktion im gequetschten Röhrchen im Bilde festhalten. Verwendung eines Photos mit Vorsatzlinse für Nahaufnahmen. Der Hintergrund ist am besten schwarz und nicht glänzend. Zur Beleuchtung benutzte ich eine gewöhnliche Heimphotolampe, die so günstig aufzustellen ist, daß am wenigsten Licht vom Glasröhrchen reflektiert wird.



Aufnahme 1.

Typisch geltende Ringbildung einer spezifischen Reaktion. Menschenblutlösung in Verdünnung 1 : 1000 mit hochspezifischem Menschenantiserum.



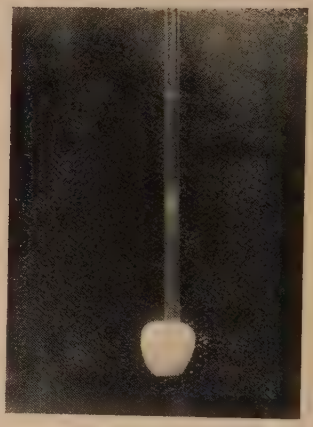
Aufnahme 2.

Irrtümliche Reaktion. Deutlich sichtbare Trübung an der Röhrchenwand. Menaus stark imprägniertem Gummimantel. schenantiserum und Extraktflüssigkeit Extraktionsdauer 48 Stunden. Aufgelockerte Wolkenbildung an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten.

Für die Untersuchung von kleinen Blutflecken hat H a u s e r empfohlen, die Präcipitation im Haarröhrchen, Kapillare, durchzuführen. In dieser Hauserschen Kapillare ist der irreguläre Ablauf einer unspezifischen Reaktion schwieriger zu erkennen. Mit einer Kapillare wird etwas Flüssigkeit von der untersuchenden Lösung aufgenommen, wobei die Höhe der Flüssigkeitssäule beliebig sein kann. Sie beträgt bei meinen Versuchen durchschnittlich 2—3 cm. Der untere Flüssigkeitsspiegel wird mit Hilfe des den Luftdruck regulierenden Zeigefingers etwa einen halben bis einen Millimeter über dem unteren Ende der Kapillare fixiert. Nachdem ich dieses Ende dann mit Fließpapier abgetrocknet habe, tauche ich es in einen auf den Objektträger gebrachten Tropfen des Antiserums. Bei Schräghalten der Kapillare wird das Antiserum durch Kapillarattraktion auch aufgenommen, sodaß nun Antiserum und Extraktflüssigkeit, getrennt durch eine winzige Luftblase, in derselben vorhanden sind. Nun trockne ich wiederum das untere Ende ab und verschließe es dann mit einem Plastillinkügelchen. Das Luftbläschen wird nun durch eine schneppernde Bewegung beseitigt, was nicht immer gelingen mag. H a u s e r beschreibt seinen Versuch ohne das Dazwischentreten einer Luftblase. Seiner Meinung nach ist auch so die Vermischung von Antiserum und Extrakt nur gering, da das Serum spezifisch schwerer ist.

Die Berührungsfläche der beiden Flüssigkeiten zeigt bei einer spezifischen Reaktion nach wenigen Minuten eine deutliche ringförmige

Trübung, welche zuerst dicht staubförmig erscheint, allmählich immer intensiver werdend, sich mehrere Millimeter nach oben in die Blutlösung fortsetzt. Sie führt schließlich zu dem gleichen flockigen Niederschlag, wie er im gequetschten Röhrchen zu beobachten ist. Bei der unspezifischen Reaktion vermißt man diese staubförmige Trübung an der Berührungsstelle vollkommen. Hier bilden sich sogleich weiße Wölkchen im unteren Teil des Extraktes, gewissermaßen weniger gebunden an die Berührungsfläche. Bei oberflächlicher Beobachtung mit bloßem Auge mag man diese Wolkenbildung für eine spezifische Ringbildung halten. Auf schwarzem Grunde und mit der Lupe betrachtet sind die Fällungen in ihrer Verschiedenheit einigermaßen besser sichtbar.



Aufnahme 3.

Irrtümliche Reaktion in der Hauserschen Kapillare. Extrakt aus stark imprägniertem Gummimantel (Kleppermantel) und Menschenantiserum. Die Trübung gleicht derjenigen einer spezifischen Reaktion bei Verwendung einer Menschenblutlösung in einer Verdünnung von 1 : 100 mit hochspezifischem Menschenantiserum.

Wie Marx, Oelze und Huber mitteilen, erfordert die Beobachtung der Präcipitinreaktion mit dem Mikroskop im Dunkelfeld eine weitgehende Übung. Da ich auch mit dieser Methode einen etwaigen Unterschied zwischen einer spezifischen und einer unspezifischen Reaktion klarstellen wollte, habe ich mich zunächst eingehend mit den Arbeiten von Huber und Marx zur Ausführung dieser Untersuchungsmethode befaßt. Man benutzt die mittelstarke Vergrößerung eines Mikroskopes, einen Dunkelfeldkondensor und eine helle Lichtquelle (100kerzige Quarzlampe oder das Licht einer Bogenlampe).

Auf einem Objektträger werden ein kleiner Tropfen Antiserum — nach M a r x 0,01 ccm — und ein gleich großer Tropfen von Blutextrakt mit Kapillarpipetten gebracht. M a r x vermischte nun mit einer ausgeglühten Platinöse beide Flüssigkeiten und legte dann das Deckglas auf. H u b e r läßt beide Tropfen in einer Entfernung von einigen Millimetern liegen und erreicht durch geschicktes Daraufflegen des Deckglases, daß sich gleichzeitig beide Tropfen berühren, ohne sich stark zu vermischen. Die Reaktion beobachtet man dann unter dem Mikroskop bei Dunkelfeldbeleuchtung. Zur Übung habe ich zunächst die von M a r x angegebenen folgenden Untersuchungen angestellt:

Von Menschenblutserum habe ich in physiologischer Kochsalzlösung Blutextrakte von verschiedener Konzentration hergestellt, und zwar 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 5000, 1 : 10000.

Antiserum und Blutlösungen wurden gut zentrifugiert, um dieselben klar zu erhalten. Zur Verwendung gelangen nur neue und gut gereinigte Objektträger und Deckgläser. Die Flüssigkeitstropfen habe ich nicht vermischt, sondern mit Hilfe einer Pincette gelang es mir, das Deckglas so aufzulegen, daß beide Tropfen, wie H u b e r es angibt, gleichzeitig berührt werden. Durch Kohäsion nähert sich nun das Deckglas dem Objektträger und die beiden Flüssigkeiten fließen zusammen. Unter dem Mikroskop konnte ich zunächst weder die angegebene Körnelung noch die Ausflockung beobachten. Mein Fehler bestand darin, daß ich zu kleine Tropfen auf den Objektträger gebracht hatte, bzw. daß das Deckglas für diese Tropfen zu groß war. Es entstanden unter dem Deckglas überall Luftblasen. Diese saugten das Deckglas so stark an, daß eine Ausflockung nicht zustande kommen konnte. Die beiden Tropfen müssen also so groß sein, daß beim Daraufflegen des Deckglases die Flüssigkeiten bis an die Ränder des Deckglases reichen. Nach dieser Beobachtung habe ich folgendes feststellen können:

Bei der Lösung 1 : 100 treten im Berührungsstreifen der beiden Flüssigkeitstropfen grießartige Körnchen von grauweißer Farbe auf. Zusammenballung dieser Körnchen zu sternförmigen Flocken. Diese Flocken vergrößern sich noch 5—10 Minuten lang.

Bei der Lösung 1 : 500 findet man erst nach zwei bis drei Minuten den verdichteten gekörnelten Streifen. Dann bilden sich aber auch

hier deutlich erkennbare Flocken, die sich gut gegen den schwarzen Hintergrund abheben.

Bei den weiter angegebenen Verdünnungsgraden bis 1 : 2000 ist eine Körnelung kaum sichtbar. Beim Absuchen des Präparates sieht man nach 4—6 Minuten Flockenbildung, die aber nicht mehr die Größe der stärkeren Konzentrationen erreicht. Bei den Lösungen 1 : 3000 bis 1 : 10000 konnte ich nichts mehr beobachten.

Um Fehlschlüsse zu vermeiden, habe ich kontrollierende Proben gemacht, indem ich Menschenantiserum mit Kaninchenblutlösung, Schweineblutlösung und mit reiner physiologischer Kochsalzlösung mittels dieser Untersuchungsmethode auf etwaige Flockenbildung untersuchte. Wie zu erwarten war, zeigte sich keine derartige spezifische Flockenbildung. Der Berührungsstreifen war höchstens durch das Vorhandensein mehrerer Körnchen zu erkennen. Diese Körnchen, die im Blutextrakt trotz Zentrifugierung als Verunreinigung noch vorhanden sind, brechen das Licht stärker und erscheinen deshalb heller als die spezifische grauweiße Körnelung.

Nach Ausübung und damit Erkennung einer spezifischen Reaktion mittels dieser Methode untersuchte ich nun meine Extrakte aus stark imprägnierten Gummimänteln, Fahrradmänteln, Autoreifen und Buna.

Bei diesen irrtümlichen Reaktionen ist eine Körnelung nicht sichtbar. Es bilden sich starke Flockenverbände, die nicht gleichmäßig am Berührungsstreifen zu verfolgen sind. Nur an einzelnen Stellen des Berührungsstreifens treten Zusammenballungen großer Flocken auf, die die netzförmige Struktur vermissen lassen.

In skizzenhafter Darstellung bringe ich die typischen Unterscheidungsmerkmale zwischen einer spezifischen und einer unspezifischen Reaktion nach der Objektträgermethode unter dem Mikroskop bei Dunkelfeldbeleuchtung.

Linke Skizze:

Beobachtung einer spezifischen Reaktion unter dem Mikroskop auf dem Objektträger bei Dunkelfeldbeleuchtung (50fache Vergrößerung). Netzförmige Flockenbildung am Berührungsstreifen. Blutlösung in Verdünnung 1 : 100 mit hochspezifischem Antiserum.

Rechte Skizze:

Unspezifische Reaktion. Nur an einzelnen Stellen des Berührungsstreifens Zusammenballung größerer Flocken. Körnelung fehlt (50fache Vergrößerung).

Zusammenfassung.

Beim biologischen Blutnachweis können chemische Einflüsse der Blutunterlage zu Trugschlüssen führen. Untersuchungen bestätigten mir die Verhinderungsmöglichkeit des Auftretens einer spezifischen Reaktion durch starke Alkalien und starker Antiseptica. Durch den zu starken Säuregrad eines Extraktes kommt es durch Koagulation des Eiweißes zur Ausfällung, die der typischen Ringbildung einer spezifischen Reaktion täuschend ähnelt. Nichtbeachtung dieser Fehlreaktionen können das Schicksal eines Menschen durch gerichtliches Fehlurteil ungünstig entscheiden.

Gegenüber diesen in ihrem Erscheinungsbild nicht zu unterscheidenden Fehlreaktionen von spezifischen Reaktionen habe ich bei den erstmals von H e i n d l als „irrtümlich" bezeichneten Reaktionen eine Differenzierung gegenüber spezifischen Reaktionen beobachtet.

Diese Unterscheidungsmerkmale sind am ersichtlichsten, wenn man

die Präcipitinprobe im gequetschen Röhrchen anstellt, während nach der Methode in der Hauserschen Kapillare und der Objektträgermethode unter dem Mikroskop bei Dunkelfeldbeleuchtung nur der Geübte irrtümliche Reaktionen von spezifischen zu unterscheiden vermag.

Während die meisten als Blutunterlage in Frage kommenden Stoffe keinen störenden Einfluß auf den biologischen Blutnachweis geben, beweisen meine Untersuchungen, daß Extrakte von stark imprägnierten Gummimänteln, Fahrrad- und Autoreifen und Buna beim Hinzufügen von tierischem und menschlichem Serum Ausfällungen ergeben.

Nach Fertigstellung meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Mueller für die Überlassung des Themas sowie die gütige Unterstützung meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Fritz: Eine Irrtumsmöglichkeit bei der Uhlenhuthschen Präcipitinprobe. Archiv f. Krim. Bd. 106, S. 145.

Hauser: Über einige Erfahrungen bei Anwendung der sero-diagnostischen Methode für gerichtliche Blutuntersuchungen. Münch. med. Woch. 1904, S. 289.

Heindl: Eine Irrtumsmöglichkeit bei der Uhlenhuthschen Präcipitinprobe. Archiv f. Krim. Bd. 106, S. 46.

Huber: Ausführungen der Präcipitinreaktion mit kleinsten Blutspuren. Dt. Zt. f. gerichtl. Med. Bd. 31 (1939), S. 229.

Leers: Die forensische Blutuntersuchung. J. Springer-Verlag 1910.

Marx: Neue Methoden zur Differenzierung kleinster Blutspuren mittels der Uhlenhuthschen Serum-Präcipitinreaktion. V. gerichtl. Med. Bd. 59, S. 149.

Oelze: Über die Präcipitinreaktion im Dunkelfeld für forensische Zwecke. Dt. med. Woch. Nr. 45 (1921), S. 128.

Pfeiffer: Der biologische Blutnachweis. Abderhaldens Handbuch d. biol. Arbeitsmethode. IV Teil 12 (1923), S. 199.

Uhlenhuth und Weidanz: Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens. G. Fischer-Verlag 1909.
Aus diesem Schrifttum sind die Versuchsergebnisse von
Graham-Smith und Nuttal entnommen.

Walcher: Gerichtlich-medizinische und kriminalistische Blutuntersuchung. J. Springer-Verlag 1939.

— Zur Technik der Uhlenhuthschen Eiweißpräcipitinreaktion. Dt. Zt. f. gerichtl. Med. Bd. 9 (1927), S. 728.

Lebenslauf.

Am 14. April 1916 wurde ich als Sohn des Hauptlehrers Jakob Dehoust und dessen Ehefrau Emma, geb. Kirchenbauer, in Mannheim geboren. Nach vier Jahren Volksschule besuchte ich die Tulla-Oberrealschule in Mannheim, wo ich Ostern 1935 das Abitur machte. Vom 1. 4.—30. 9. 35 war ich im freiwilligen Arbeitsdienst. Dann begann ich das Studium der Zahnmedizin an der Universität Heidelberg, wo ich nach 7 Semestern am 28. Mai 1939 als Zahnarzt approbierte. Seit dem 16. Dezember 1939 bin ich Soldat. Nach viermonatiger Ausbildung in Posen nahm ich am siegreichen Feldzug gegen Frankreich teil.

Hermann Dehoust.